

ارتباط بین چندشکلی ژن *CPEB1* (rs230846 C>T) با آژواسپرمی / الیگواسپرمی شدید

رضا کیان بستان آباد (MSc)^۱، سعید قربان (PhD)^{۲*}

۱- گروه ژنتیک مولکولی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

دریافت: ۸۷/۱/۱۵، اصلاح: ۸۷/۲/۱۷، پذیرش: ۹۷/۳/۷

خلاصه

سابقه و هدف: ژن *CPEB1* نقش مهمی در فرآیند گامت زایی ایفا می کند. با توجه به این که هنوز بسیاری از علل ناباروری مردان ناشناخته است، هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین چندشکلی ژن *CPEB1* (rs230846 C>T) با آژواسپرمی / الیگواسپرمی شدید با علت نامعلوم در مردان می باشد.

مواد و روش ها: این مطالعه مورد-شاهدی بر روی ۱۰۰ نمونه خون محیطی مردان آژواسپرم / الیگواسپرم شدید با علت نامعلوم و ۱۰۰ نمونه خون محیطی مردان سالم مراجعه کننده به بخش ناباروری و نازایی بیمارستان الزهرا تبریز در طی سال های ۱۳۹۶-۱۳۹۴ انجام شد. با استفاده از روش PCR-RFLP برای تعیین فراوانی ژنوتیپها و سپس ارتباط بین چندشکلی با پارامترهای بالینی مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: فراوانی ژنوتیپ CT+TT/CC در چندشکلی ژن *CEBPI* در بین گروه های سالم و بیمار اختلاف معنی داری را نشان نداد ($CI=0/730-2/220$), $1/273$, $P=0/395$, $OR=$). علاوه بر این، ارتباط معنی داری در هیچ کدامیک از پارامترهای بالینی *MSC.FSC*، *SMI* و با ژنوتیپها مشاهده نشد.

نتیجه گیری: یافته ها نشان داد که چندشکلی rs230846 ژن *CEBPI* به عنوان عامل مستعد کننده خطر برای ابتلا مردان به ناباروری ناشی از آژواسپرمی / الیگواسپرمی شدید نقش ندارد.

واژه های کلیدی: آژواسپرمی، ناباروری مردان، الیگواسپرمی.

مقدمه

تقریباً ۱۸-۱۳ درصد از زوجین مشکل باروری وجود دارد که نیمی از آن مربوط به مردان است. علت ناباروری مردان در ۴۰ درصد از موارد شناخته شده و در ۶۰ درصد از موارد از نظر آسیب شناسی قابل توجه نیست. بنابراین درمان ناباروری در مردان مشکل تر از زنان است (۱). به طور کلی، علل ناباروری مردان به سه دسته عوامل ژنتیکی، غیر ژنتیکی و عفونی تقسیم بندی می شوند (۲ و ۱). مهم ترین عوامل ژنتیکی شامل سندرم کلاین فیلتر، xx male، سندرم Noon's، ریز حذف های کروموزوم Y، جهش های DNA میتوکندریایی، نقایص تک ژنی، بیان غیرطبیعی RNAهای غیر رمز کننده (non-coding RNA) و نقایص چندعاملی است (۳-۸). تخمین زده شده که در حدود ۲۰۰۰ ژن در کنترل این فرآیند نقش داشته باشند که بیشتر آن ها بر روی کروموزوم های آتوزوم و تقریباً ۳۰ ژن نیز روی کروموزوم Y واقع شده باشند (۹). علی رغم تمام عوامل ذکر شده، هنوز بیش از ۱۵-۱۰ درصد از علل ناباروری مردان ناشناخته باقی مانده است و تاکنون هیچ علتی شناسایی نشده است که چنین مواردی تحت عنوان ناباروری آیدیوپاتیک مردان شناخته می شود (۱۰ و ۱۱). آژواسپرمی و الیگواسپرمی که به علت تغییرات ژنتیکی ایجاد می شوند بخش مهمی از علل ناباروری مردان را تشکیل می دهد. آژواسپرمی یکی از تظاهرات رایج عقمی است که ۱۰ تا ۱۵ درصد از موارد ناباروری را تشکیل می دهد. مطالعات نشان می دهد عوامل ژنتیکی عامل بروز یک سوم از موارد

آژواسپرمی است (۱۲ و ۱۳). ارتباط بین چندشکلی های ژنتیکی و استعداد ابتلا به ناباروری از جمله مباحث پراهمیت و کاربردی به شمار می رود (۱۷-۱۴). در مطالعات اخیر نشان داده شد که حضور یک چندشکلی در ژن *CPEB* (rs230846) عامل مستعد کننده خطر برای آژواسپرمی است. ژن *CPEB* زیر واحد آلفای هورمون گلیکوپروتئین را رمز می کند که با زیر واحدهای بتای گونادوتروپین ها و هورمون محرک تیروئید یک هورمون عملکردی را تشکیل و به گیرنده های مربوطه متصل می شوند. این ژن توزیع بافتی گسترده ای دارد و در انواع مختلفی از بافت ها از جمله بیضه ها، تخمدان ها، سلول های جفتی و بافت های چربی بیان می شود (۱۸). ژن *CPEB* پروتئین مهمی را رمز می کند که عضوی از خانواده پروتئین های عنصر پلی آدنیلایسون اتصال سیتوپلاسمی *CPEB* (Cytoplasmic Polyadenylation Element Binding Protein) است که محصول پروتئینی، واجد یک توالی خاصی است که در تنظیم فرآیند ترجمه در تخمک زایی در مهره داران نقش دارد. این پروتئین در سیتوپلاسم و هسته دارای عملکرد بوده و ممکن است نقش مهمی در تکثیر سلولی و ایجاد تومور داشته باشد (۱۹). ژن *CPEB1* بر روی کروموزوم 15q25.2 قرار گرفته و دارای چهارده اگزون است که محصول آن یک پروتئین کاملاً حفاظت شده است. پروتئین های *CPEB* با متصل شدن به چند mRNA، از جمله *Smad1*، *Smad5*، *Spindlin*، *Bub1b*، *MOS*، *H1foo*،

این مقاله حاصل پایان نامه رضا کیان بستان آباد دانشجوی کارشناسی ارشد رشته ژنتیک و طرح تحقیقاتی به شماره ۹۵۱۰۰۱ دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر سعید قربان

آدرس: آذربایجان شرقی، اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر، گروه ژنتیک مولکولی. تلفن: ۴۴۳۳۳۱۶۲-۴۱

E-mail: ghorbian20@yahoo.com

بیماران علت ناباروری ذکر شده بود از مطالعه حذف گردیدند. در گروه سالم، مردان باروری که دارای فرزند، باروری طبیعی و فاقد سوابق خانوادگی ناباروری بودند و دارای نتایج اسپرموگرام طبیعی بودند، انتخاب شدند. بعد از اخذ رضایت‌نامه از افراد موردبررسی و با رعایت کامل موازین اخلاقی، از هرکدام ۲ میلی‌لیتر نمونه خون محیطی در ویال‌های حاوی ضد انعقاد EDTA با کد اختصاری و بدون اطلاع از هویت شخص از کارشناس مربوطه دریافت و DNA ژنومی با روش Salting-Out (۲۲) استخراج شد. توالی نوکلئوتیدی آغازگرها با نرم‌افزار Primer 3 طراحی و پس از BLAST کردن در سایت NCBI اختصاصات آغازگرهای طراحی‌شده ارزیابی شد.

سپس توالی ژن (Accession number: NM_001079533) جهت انتخاب آنزیم محدودالایر اختصاصی، در نرم‌افزار NEB cutter وارد و در نهایت آنزیم محدودالایر اختصاصی RsaI (۱۸) تعیین گردید (جدول ۱). جهت ارزیابی کمیت و خلوص DNA ژنومیک بادیستگاه نانودراپ (Thermo Scientific، آمریکا) تعیین گردید. برای بررسی فراوانی چندشکلی ژن CPEB1 از تکنیک PCR-RFLP استفاده گردید. به‌منظور تکثیر ناحیه اختصاصی، ۱ میکرولیتر DNA (۵۰ ng)، ۱ میکرولیتر (۱۰ pmole) آغازگرهای مستقیم و معکوس، ۱۳ میکرولیتر Master Mix Red 2x (Ampliqon، دانمارک) و ۹ میکرولیتر آب مقطر و در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر مخلوط شدند. جهت انجام واکنش PCR از دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf، آلمان) استفاده شد. مراحل تکثیر با یک واسرشته‌سازی ۹۵°C به مدت ۸ دقیقه، سپس ۳۲ دور در دمای ۹۵°C به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۷/۷°C به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۳°C به مدت ۶۰ ثانیه تکرار شد. در نهایت، تکثیر در دمای ۷۲°C به مدت ۸ دقیقه انجام شد. محصولات تکثیری قبل از هضم آنزیمی، بر روی ژل آگارز ۱٪ بارگذاری و با رنگ Safe Stain (سینا ژن، ایران) رنگ‌آمیزی شدند. جهت تعیین فراوانی ژنوتیپ‌های چندشکلی ژن CPEB1 محصول PCR با آنزیم محدودالایر Rsa I (Fermentas، آلمان) و بر اساس پروتکل شرکت سازنده هضم آنزیمی انجام شد. به این منظور، ۱۰ میکرو لیتر محصول PCR، ۲ میکرو لیتر از Buffer 10x، ۱ میکرو لیتر آنزیم و ۱۷ میکرو لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ۶ ساعت در دمای ۳۷°C انکوبه شد. قطعات حاصل از هضم آنزیمی با ژل آگارز ۴٪ جدا و با رنگ آمیزی Safe Stain شناسایی شدند. نتایج حاصل از ارزیابی افراد گروه‌های سالم و بیمار از نظر فراوانی ژنوتیپی، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ و آزمون آماری مجذور کای مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت مقایسه پارامترهای بالینی با نوع ژنوتیپ از آزمون t-test استفاده شد و $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

جدول ۱. توالی آغازگرهای استفاده‌شده جهت تکثیر ناحیه چندشکلی ژن CPEB1 (rs2303846) (۱۸).

آنزیم محدودالایر	اندازه محصول (جفت باز)	دمای اتصال (°C)	توالی آغازگر (5' → 3')	چندشکلی ژن CPEB1
Rsa I	۱۱۹	۵۷/۷	Forward: 5'-TGGCAGGTCAGGCAAGCAGC-3' Reverse: 5'-GCAGAAACAAAGACAGATTCAGCAAG-3'	rs2303846

CC، (هتروزیگوت) CT و (هموزیگوت جهش یافته) TT وجود داشت (جدول ۲). بعد از هضم آنزیمی، طول قطعات حاصل برای هموزیگوت سالم (CC) ۱۱۹ جفت باز، برای هتروزیگوت (CT) ۱۱۹، ۲۴ و ۹۵ جفت باز و برای هموزیگوت جهش (TT) ۹۵ و ۲۴ جفت باز حاصل شد.

Obox1، Dnmt1o، Trim61، TiParp و Gdf9 باعث رشد تخمک و توسعه فولیکولی می‌شود (۲۰). تاکنون فقط دو مطالعه در ارتباط با نقش چندشکلی‌های ژن CPEB1 با ناباروری مردان گزارش شده است (۱۸ و ۲۱). در اولین مطالعه‌ای که توسط Zhang و همکاران انجام‌شده بود، حضور یک چندشکلی در ناحیه 3'-UTR ژن CPEB1 را به عنوان عامل مستعد کننده خطر برای ابتلا مردان به ناباروری در جمعیت چینی گزارش کرده بودند (۱۸). علاوه براین، YadollahyKhaless و همکاران در بررسی خود نشان دادند که فراوانی این چندشکلی در بین گروه‌های مورد مطالعه اختلاف معنی داری دارد (۲۱). به دلیل وجود اختلاف در فراوانی آلل‌ها در قومیت‌ها و نژادهای مختلف، این مطالعه برای اولین بار فقط بر روی نژاد خاص ترک آذری در ایران انجام شده است. از طرفی، با توجه به این که فقط نتایج مطالعات اندک نمی‌تواند در جهت تأیید ارتباط یک چندشکلی با یک اختلال خاص در نظر گرفته شود، لذا هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین چندشکلی (rs2303846) ژن CPEB1 با خطر ابتلا مردان به آزواسپرمی/الیگواسپرمی شدید با علل ناشناخته در افراد مراجعه‌کننده به بیمارستان الزهرا شهر تبریز انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد-شاهدی بر روی ۱۰۰ نمونه خون محیطی مردان آزواسپرم/الیگواسپرم شدید و ۱۰۰ نمونه خون محیطی مردان سالم (دارای فرزند، باروری طبیعی، فاقد سوابق خانوادگی ناباروری و طبیعی از نظر تعداد اسپرم) است که به بخش ناباروری و نازایی بیمارستان الزهرا تبریز در طی سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۴، جهت درمان مراجعه کرده بودند، انجام شد. تعیین حجم نمونه با استفاده از فرمول کوکران با در نظر گرفتن $p=0.05$ (نسبتی از جمعیت دارای صفت معین)، مقدار متغیر نرمال واحد استاندارد در میزان اطمینان ۹۵ درصد ($Z=1.96$) و میزان خطای قابل تحمل ($d=0.04$) به تعداد ۲۰۰ نمونه (۱۰۰ نمونه مردان بارور و ۱۰۰ نمونه مردان نابارور آزواسپرم/الیگواسپرم شدید) با علل نامعلوم برآورد شد. مردان ناباروری که در ارزیابی‌های متخصصین اورولوژی، نازایی و ژنتیک پزشکی به صورت آزواسپرم/الیگواسپرم شدید با علت نامعلوم گزارش شده و براساس نتایج اسپرموگرام تعداد اسپرم کمتر از ۵ میلیون در میلی لیتر مایع منی داشتند و از نظر ناهنجاری سیتوژنتیکی با روش G-Banding و آزمایش‌های مولکولی از نظر ریزحذف‌های کروموزوم Y در نواحی (AZF (Azoospermia Factor) مورد ارزیابی قرار گرفته بودند و علل خاصی گزارش نشده بود، انتخاب شدند. در مواردی که در پرونده

یافته‌ها

میانگین سن افراد گروه سالم ۴۳±۶/۲۲ سال (در محدوده سنی ۳۳-۶۳ سال) و گروه بیمار ۴۳±۵/۴۳ سال (در محدوده سنی ۲۵-۵۹ سال) بود که اختلاف معنی داری بین دو گروه مشاهده نشد. انتظار ۳ نوع ژنوتیپ متشکل از (هموزیگوت سالم)

جدول ۲. فراوانی ژنوتیپ‌های چندشکلی ژن CPEB1 (rs230846 C>T)

در افراد گروه‌های سالم و بیمار		
گروه	سالم تعداد(درصد)	بیمار تعداد(درصد)
هموزیگوت سالم (CC)	۲۲(۴۹)	۲۳(۵۱)
هتروزیگوت (CT)	۴۴(۴۷)	۵۰(۵۳)
هموزیگوت جهش یافته (TT)	۳۴(۵۶)	۲۷(۴۴)

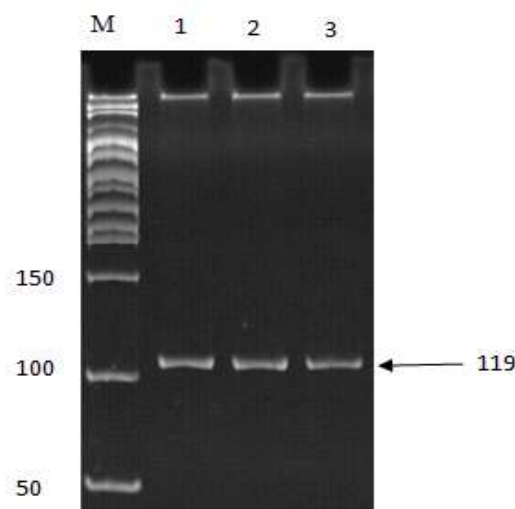
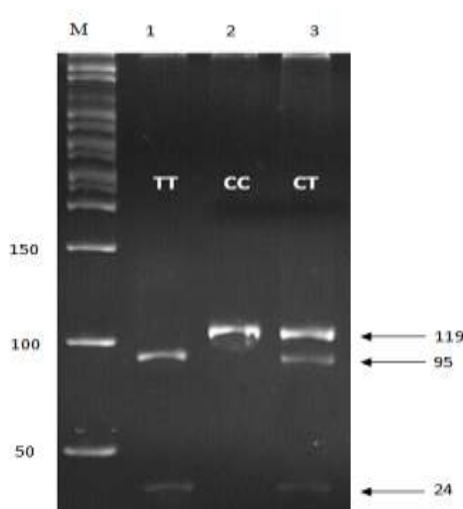
$$p=۰/۵۴۶$$

فراوانی ژنوتیپی برای افراد بیمار و سالم در سه الگوی وراثتی هم‌بارزی (Codominant)، غالب (Dominant) و مغلوب (Recessive) مورد ارزیابی قرار گرفت. فراوانی ژنوتیپ‌ها در بین دو گروه مورد ارزیابی در الگوی توارثی هم‌بارزی، از نظر آماری اختلاف معنی داری را نشان نداد ($p=۰/۳۹۵$; $OR=۰/۷۳$; $CI=۰/۲۷۳$) (جدول ۳). تصویری از ژل الکتروفورز محصولات تکثیر PCR با طول ۱۱۹ جفت باز برای ژن CPEB1 در شکل ۱ نشان داده شده است.

علاوه بر این، نمونه‌ای از تصویر ژل الکتروفورز حاصل از واکنش PCR-RFLP در شکل ۲ نشان داده شده است. در این تصویر، ستون ۱ فردی با ژنوتیپ هموزیگوت جهش یافته (TT)، ستون ۲ فردی با ژنوتیپ هموزیگوت سالم (CC) و ستون ۳ فردی با ژنوتیپ هتروزیگوت (CT) را نشان داده است. به‌طور کلی در هیچ‌یک از الگوهای توارثی Codominant، Dominant و Recessive اختلاف معنی‌داری در فراوانی ژنوتیپی بین گروه‌های مورد ارزیابی مشاهده نشد (جدول ۳). همچنین، ضمن مقایسه فراوانی حامل‌ها (هتروزیگوت‌ها) با غیر حامل‌ها در الگوی توارثی هم‌بارزی، اختلاف معنی‌داری بین دو گروه نشان داده نشد ($p=۰/۸۶۶$: $OR=۰/۹۴۴$; $CI=۰/۴۸۶-۱/۸۳۴$). علاوه بر این، پارامترهای بالینی دیگری از جمله، غلظت اسپرم‌های دارای مورفولوژی طبیعی (FSC; Functional Sperm Concentration)، غلظت اسپرم‌های حاوی پیش‌رونده (MSC; Motile Sperm Concentration)، حرکت، مورفولوژی و شاخص کیفیت نمونه با در نظر گرفتن تعداد (SMI; Sperm Motility Index) در بین افراد گروه بیمار با ژنوتیپ‌های مختلف ارتباط معنی داری در هیچ‌کدامیک از پارامترها با ژنوتیپ‌ها مشاهده نشد (جدول ۴).

جدول ۳. مقایسه فراوانی چندشکلی ژن CPEB1 در مردان گروه سالم و بیمار در الگوهای توارثی مختلف مراجعه‌کننده به بخش ناباروری و نازایی بیمارستان الزهرا تبریز در طی سال‌های ۱۳۹۴-۱۳۹۶

الگو	گروه	بیمار تعداد(درصد)	سالم تعداد(درصد)	OR	CI-95% پایین بالا	P
غالب	CC	۲۳(۵۱)	۲۲(۴۹)	۱/۰۵۹	۱/۰۵۷	۰/۸۶۶
	CT+TT	۷۷(۴۹)	۷۸(۵۱)			
هم‌بارزی	CT	۵۰(۵۳)	۴۴(۴۷)	۱/۲۷۳	۲/۲۲۰	۰/۳۹۵
	CC+TT	۵۰(۴۷)	۵۶(۵۳)			
مغلوب	TT	۲۷(۴۴)	۳۴(۵۶)	۰/۳۹۲	۲/۲۸۲	۰/۷۱۸
	CC+AT	۷۳(۵۳)	۶۶(۴۷)			



شکل ۲. نتایج PCR-RFLP برای چندشکلی ژن CEBP1 در ژل آگارز ۴٪. M: شاخص وزن مولکولی ۵۰ جفت بازی (۵۰bp)، ستون ۱: هموزیگوت جهش یافته (TT)، ستون ۲: هموزیگوت سالم (CC)، ستون ۳: هتروزیگوت (CT).

شکل ۱. نتایج PCR برای چندشکلی ژن CEBP1 در ژل آگارز ۱٪. M: شاخص وزن مولکولی ۵۰ جفت بازی (۵۰bp)، ستون‌های ۱، ۲ و ۳: محصول تکثیر ۱۱۹ جفت بازی ژن CEBP1.

جدول ۴. ارتباط بین پارامترهای بالینی با ژنوتیپ‌های چندشکلی ژن *CPEB1* (rs230846 C>T) در مردان گروه بیمار

پارامترهای بالینی	چندشکلی ژن <i>CPEB1</i> (rs230846 C>T)			P-value
	TT	CT	CC	
سن (سال)	۱۲	۳۴	۲۶	۰/۶۳۴
	۷	۱۲	۹	
SMI	۹	۲۲	۱۴	۰/۸۵۰
	۸	۱۸	۱۸	
FSC	۶	۲۰	۱۵	۰/۸۱۴
	۹	۲۱	۱۵	
	۴	۵	۵	
MSC	۹	۲۲	۱۴	۰/۸۵۰
	۸	۱۸	۱۸	

*آنالیز آماری با آزمون t-Test، سطح معنی داری ۰/۰۵؛ FSC؛ Functional Sperm Concentration؛ MSC؛ Motile Sperm Concentration؛ SMI؛ Sperm Motility Index

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر برخلاف ارزیابی‌های قبلی، ارتباط معنی داری بین چندشکلی ژن *CPEB1* با افزایش خطر ابتلا مردان به آژواسپرمی/الیگواسپرمی شدید با علت نامعلوم را نشان نداد. مطالعات نشان داده است که حضور چندشکلی در ژن *CPEB1* باعث تغییر در جایگاه‌های اتصال miRNA شده و خطر بیماری‌های پیچیده ژنتیکی همچون ناباروری را در مردان افزایش می‌دهد (۱۸). این ژن به‌عنوان یک تنظیم‌کننده در فرآیند ترجمه در سلول‌های جنسی حائز اهمیت است (۲۳).

نتایج مطالعات Tay و همکارانش نشان داد که در طی سرکوب ژن *CPEB1*، اندازه غدد جنسی در موش‌ها کاهش یافته و به طبع آن گامت‌های کمتری نسبت به موش‌های سالم تولید شده بود. کاهش تولید گامت‌ها به خاطر توقف در مسیر تکاملی در طی مرحله پاکتین میوز I حادث شده بود چرا که تنظیم دم پلی A در طی فرآیند ترجمه مولکول‌های mRNA که در شکل‌گیری پروتئین‌هایی که در سیتوپلاسم نقش دارند، به‌واسطه پروتئین *CPEB1* انجام می‌شود (۲۳). پروتئین *CPEB1* در میزان پایداری بسیاری از مولکول‌های mRNA دخیل در طی فرآیند گامت زایی نقش دارد (۲۵ و ۲۴).

در مطالعه‌ای که توسط Zhang و همکارانش بر روی ۴۴۹ مرد آژواسپرم و یا الیگواسپرم شدید و ۳۵۷ مرد سالم انجام شده بود، نشان دادند که حضور یک چندشکلی در ناحیه 3'-UTR ژن *CPEB1* ارتباط معنی داری با خطر ابتلا به ناباروری در جمعیت چینی دارد. در این مطالعه با استفاده از ابزارهای miRanda، Targetscan نشان داده بودند که وجود این چندشکلی می‌تواند بر کیفیت اتصال miR-668 و miR-668 تأثیرگذار باشد (۱۸). این در حالی است که نتایج مطالعه حاضر برخلاف گزارش قبلی ارتباطی بین این چند شکلی با خطر ناباروری مردان نشان نداد.

در تحقیقی YadollahyKhaless و همکارانش بر روی ۷۰ مرد سالم و ۷۰ مرد نابارور (آژواسپرم/الیگواسپرم) مراجعه کننده به مرکز ناباروری قم انجام داده بودند، اختلاف معنی‌داری را در فراوانی ژنوتیپ‌های CC و TT در بین افراد دو گروه گزارش کرده بودند (۲۱). در تحقیق ما، بیشترین فراوانی‌ها مربوط به

ژنوتیپ‌های هتروزیگوت (CT) بودند، ولی در مطالعه YadollahyKhaless و همکاران فراوانی هتروزیگوت‌ها صفر و فراوانی ژنوتیپی را در نژادهای مختلف (کرد، لر، عرب، گیلکی، فارس و ترک) به‌صورت یکنواخت و همگن گزارش کرده بودند و اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. البته چنین نتیجه‌گیری‌ای با این تعداد اندک از افراد با قومیت و نژاد مختلف بایستی با احتیاط بیشتری انجام شده باشد. در مطالعه حاضر که بر روی ۱۰۰ مرد آژواسپرم/الیگواسپرم شدید با نژاد ترک آذری صورت گرفته بود نتایج کاملاً متناقضی نشان داده شد. در توجیه این اختلافات دیده شده بین نتایج بررسی‌های صورت گرفته بر روی این چندشکلی و اهمیت ارزیابی آن در ناباروری مردان، می‌توان عنوان کرد که شاید توزیع آللی در مناطق جغرافیایی مختلف به شکل متفاوتی باشند.

این احتمال هم ممکن است مطرح باشد که تفاوت در نژاد، قومیت و زمینه ژنتیکی افراد مختلف مورد مطالعه نقش داشته باشد. همچنین، معیارهای مختلفی که در انتخاب گروه بیماران و سالم در نظر گرفته می‌شود می‌تواند منتهی به اختلاف در نتایج ارزیابی‌ها گردد. البته گاهی این چنین اختلافاتی می‌تواند به دلیل خطاهای ناشی از نمونه‌گیری و آنالیز داده‌ها باشد. ویژگی‌های این مطالعه این است که در انتخاب نمونه‌های بیماران، معیارهای ورود و خروج از مطالعه با دقت و حساسیت بالایی انجام شد و فراوانی چندشکلی rs2303846 در الگوهای توارثی مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت که در هیچ کدامیک از الگوها، اختلاف معنی‌داری در فراوانی ژنوتیپ‌ها در بین دو گروه مورد بررسی مشاهده نشد.

علاوه براین، در این ارزیابی ارتباط بین هریک از ژنوتیپ‌های چندشکلی rs2303846 با پارامترهای بالینی از جمله سن، FSC، MSC و SMI در مردان نابارور مورد آنالیز قرار گرفت که در هیچ کدامیک از این شاخص‌ها، ارتباط معنی‌داری نشان داده نشد. در طی ارزیابی‌های بیوانفورماتیکی نشان داده شده بود که در نتیجه جایگزین شدن آلل T به جای C در چندشکلی rs2303846 ممکن است که مولکول‌های تنظیم کننده miRNA در اتصال به ناحیه حضور چندشکلی مولکول‌های mRNA حاصل از ژن *CPEB1* کارایی کمتری داشته باشند و منجر به تداوم در بیان ژن هدف گردد. به‌طوری که باید بعد از ایفای نقش ژن *CPEB1*، بیان آن مهار گردد که با وجود آلل جهش یافته T

مردان مورد توجه قرار گیرد. البته جهت تأیید نتایج این چندشکلی با ناباروری مردان، نیازمند آن است که در جمعیت‌هایی با نژادهای مختلف و مناطق جغرافیایی متفاوت مورد بررسی مجدد قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر و کلیه شرکت‌کنندگان و افرادی که در این مطالعه ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

این عملکرد مهمی متوقف خواهد شد و پیامدهای حاصل از آن تأثیرات منفی‌ای خواهد بود که در طی اسپرماتوژنز نشان می‌دهد (۲۵). البته جهت تأیید نتایج گزارش شده، به انجام مطالعات وسیع‌تر و در جمعیت‌هایی بانژادها و قومیت‌های متفاوتی نیاز است و نمی‌توان ژنتیکی بودن یک اختلال خاص را با نتایج گزارش‌های چند مطالعه اندک در جمعیت‌های خاص عنوان کرد.

در تحقیق انجام‌شده نشان داده شد که حضور چندشکلی ژن *CPEB1* نمی‌تواند توجیهی برای استعداد ابتلا به اختلالات آرواسپرمی/الیگواسپرمی شدید و ناباروری در مردان جمعیت موردبررسی داشته باشد. در نتیجه شاید بتوان عنوان کرد که ارزیابی این چندشکلی نتواند به‌عنوان بیوماکر در تشخیص علل ناباروری در

Association the Study of Between Cpeb1 (Rs230846 C>T) Gene Polymorphism And Azoospermia/ Severe Oligospermia

R. Kian Bostanabad (MSc)¹, S. Ghorbian (PhD)^{1*}

1.Department of Molecular Genetics, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 20(9); Sep 2018; PP: 20-7

Received: Apr 4, 2018; Revised: May 7, 2018; Accepted: May 28, 2018.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: : *CPEB1* gene plays a significant role during gametogenesis. Due to remain unclear many causes of male infertility, we aimed to evaluate the association between of *CPEB1* rs2303846 gene polymorphism with the risk of men with idiopathic azoospermia/ severe oligospermia.

METHODS: The present study is a case-control investigation, were performed on 100 peripheral blood samples of men with idiopathic azoospermia/ severe oligozoospermia and 100 blood samples of healthy men, who were referred to department of infertility and sterility of Tabriz Al-Zahra hospital from 2015 to 2017. The PCR-RFLP method was used to determine the frequency of genotypes and then compared the relationship between polymorphism and clinical parameters.

FINDINGS: The genotypes frequency of *CEBP1* gene polymorphism CT+TT/CC did not show a statistically significant difference between groups (P=0.395, OR=1.273; CI=0.730-2.220). In addition, no significant correlation was found between genotypes and FSC, MSC and SMI clinical parameters (p<0.05).

CONCLUSION: Findings revealed that *CEBP1* rs2303846 gene polymorphism cannot to be considered as a risk factor for idiopathic azoospermia/ severe oligospermia men.

KEY WORDS: *Azoospermia, Male Infertility, Severe oligospermia.*

Please cite this article as follows:

R. Kian Bostanabad, S. Ghorbian. Association the Study of Between Cpeb1 (Rs230846 C>T) Gene Polymorphism And Azoospermia/ Severe Oligospermia. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(9): 20-7.

*Corresponding Author: S. Ghorbian (PhD)

Address: Department of Molecular Genetics, Islamic Azad University, Ahar Branch, Ahar, East Azarbaijan, I.R.Iran

Tel: +98 41 44232162

E-mail: ghorbian20@yahoo.com

References

1. Cong J, Li P, Zheng L, Tan J. Prevalence and risk factors of infertility at a rural site of northern China. *PloS One*. 2016;13;11(5):0155563.
2. Miyamoto T, Minase G, Shin T, Ueda H, Okada H, Sengoku K. Human male infertility and its genetic causes. *Rep Med Bio*. 2017;16(2):81-8.
3. Colaco S, Modi D. Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility. *Rep Biol Endocrinol*. 2018;16(1):14.
4. Ghorbani S. Routine diagnostic testing of Y chromosome deletions in male infertile and subfertile. *Gene*. 2012;15;503(1):160-4.
5. Ghorbani S. Micro-RNAs, next-generation molecular markers in male infertility field. *Tran Androl Urol*. 2012;16;1(4):245-6.
6. Poursadegh Zonouzi A, Poursadegh Zonouzi AA, Ghorbani S. PiRNAs interacting proteins, candidate molecular marker for evaluation of idiopathic male infertility. *Andrologia*. 2014;46(8):823.
7. Chen X, Li X, Guo J, Zhang P, Zeng W. The roles of microRNAs in regulation of mammalian spermatogenesis. *J Animal Sci Biotechnol*. 2017;8(1):35.
8. Hong Y, Wang C, Fu Z, Liang H, Zhang S, Lu M, et al. Systematic characterization of seminal plasma piRNAs as molecular biomarkers for male infertility. *Sci Report*. 2016;12(6):24229.
9. Kothandaraman N, Agarwal A, Abu-Elmagd M, Al-Qahtani MH. Pathogenic landscape of idiopathic male infertility: new insight towards its regulatory networks. *NPJ Gen Med*. 2016;17(1):16023.
10. Miyamoto T, Minase G, Okabe K, Ueda H, Sengoku K. Male infertility and its genetic causes. *J Obs Gynaecol Res*. 2015;41(10):1501-5.
11. AbuFaza M, Abdelazim IA, Osman HS, Alsharif DA. Evaluation of infertile men: Mini-review. *Asian Pac J Reproduct*. 2016;5(6):459-61.
12. Evangelini E, Lymberopoulos G, Asvestis C. Genetic aspects of azoospermia and severe oligozoospermia in Greek infertile men. *Hellenic Urol*. 2016;30;28(2).
13. Krausz C, Escamilla AR, Chianese C. Genetics of male infertility: from research to clinic. *Reproduct*. 2015;1;150(5):159-74.
14. Xiong DK, Chen HH, Ding XP, Zhang SH, Zhang JH. Association of polymorphisms in glutathione S-transferase genes (GSTM1, GSTT1, GSTP1) with idiopathic azoospermia or oligospermia in Sichuan, China. *Asian J Androl*. 2015;17(3):481.
15. Trang NT, Huyen VT, Tuan NT, Phan TD. Association of N-acetyltransferase-2 and glutathione S-transferase polymorphisms with idiopathic male infertility in Vietnam male subjects. *Chem-biolog Interact*. 2018;25;286:11-6.
16. Ashrafzadeh HR, Nazari T, Tezerjani MD, Bami MK, Ghasemi-Esmailabad S, Ghasemi N. Frequency of TNFR1 36 A/G gene polymorphism in azoospermic infertile men: A case-control study. *Inter J Reproduct BioMed*. 2017;15(8):521.
17. Sato Y, Hasegawa C, Tajima A, Nozawa S, Yoshiike M, Koh E, Kanaya J, Namiki M, Matsumiya K, Tsujimura A, Komatsu K. Association of TUSC1 and DPF3 gene polymorphisms with male infertility. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2018;35(2):257-63.
18. Zhang H, Liu Y, Su D, Yang Y, Bai G, Tao D, Ma Y, Zhang S. A single nucleotide polymorphism in a miR-1302 binding site in CGA increases the risk of idiopathic male infertility. *Fertil Steril*. 2011;96(1):34-9.
19. Giangarrà V, Igea A, Castellazzi CL, Bava FA, Mendez R. Global Analysis of CPEBs Reveals Sequential and Non-Redundant Functions in Mitotic Cell Cycle. *PLoS One*. 2015;10(9):0138794.

20. Tšuiiko O, Nõukas M, Žilina O, Hensen K, Tapanainen JS, Mägi R, et al. Copy number variation analysis detects novel candidate genes involved in follicular growth and oocyte maturation in a cohort of premature ovarian failure cases. *Hum Reprod.* 2016;31(8):1913-25.
21. YadollahyKhaless A, Kalhor N, Atri Roozbahani G. Association between CPEB1 gene polymorphism and Iranian male infertility. *SSU J.* 2017;25(8):612-20.
22. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl Acid Res.* 1988; 11;16(3):1215.
23. Tay J, Richter JD. Germ cell differentiation and synaptonemal complex formation are disrupted in CPEB knockout mice. *Dev Cell.* 2001;1(2):201-13.
24. Simon R, Tassan JP, Richter JD. Translational control by poly (A) elongation during *Xenopus* development: differential repression and enhancement by a novel cytoplasmic polyadenylation element. *Gen Dev.* 1992;6(12):2580-91.
25. Gebauer F, Hentze MW. Fertility facts: male and female germ cell development requires translational control by CPEB. *Molecular of Cell.* 2001;8(2):247-9.